

NEW

生細胞で使用できる GST 活性測定用プローブ

DNs-Rh <Cell-based GST Activity Assay Reagent>

DNs-Rh は Glutathione S-transferase (GST) の酵素活性を生細胞で観察することができる蛍光プローブです。GST 活性に応じて緑色の蛍光が発生するため、細胞内 GST の活性評価に有用です。

※本製品は名古屋大学大学院 理学研究科 阿部洋教授の研究成果を元に製品化されました。

MEMO

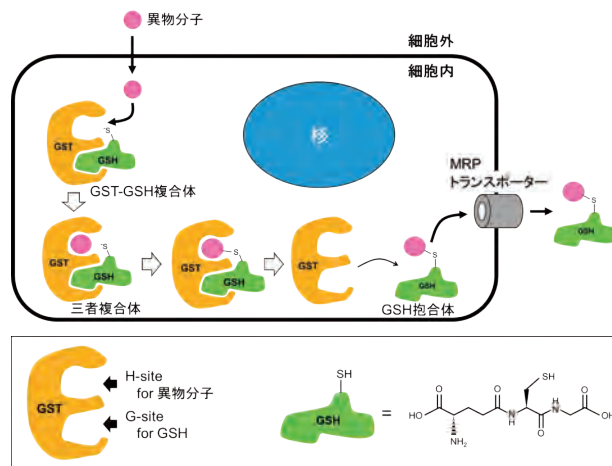
GST とその活性測定手法について

GST ファミリーは、細胞内で疎水的な異物化合物を glutathione (GSH) に付与し、GSH 抱合体に変換する活性を有します。この GSH 抱合体は、MRP* トランスポーターにより積極的に細胞外に排出されます。また、多くの抗がん剤などの医薬品も GST により細胞外に排出されてしまうため、GST は薬剤耐性因子として薬効を弱める負の効果も示します。

このように GST は異物代謝・解毒作用因子、薬剤耐性因子として機能することから、細胞内の GST 活性を測定する技術が求められています。生細胞で活性を観察できる手法はほとんどありませんでした。

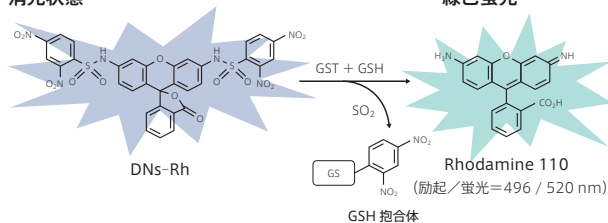
名古屋大学 阿部洋教授らにより開発された DNs-Rh は細胞膜透過性の化合物で、GST の酵素活性に応じて緑色蛍光を生じる GST 活性応答性プローブです。生細胞で使用できることから、各種細胞の GST 活性の定量化や刺激依存的な GST 活性のモニタリングに加え、従来難しかった細胞ベースでの阻害物質探索などさまざまなアプリケーションに応用可能です。

* MRP : multidrug resistance-associated protein



原理

消光状態



1. Alander, J., et al., *Anal. Biochem.*, **390**, 52~56 (2009). [PMID: 19348782]
2. Zhang, J., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 14109~14119 (2011). [PMID: 21786801]
3. Shishido, Y., et al., *ChemBioChem.*, **20** (7), 900~905 (2019). [PMID: 30548113]

特長

- 細胞膜透過性を有し、培地に添加するだけで使用できます。
- さまざまな GST ファミリーに交差性を示します。
- 生細胞を用いた実験（イメージング、フローサイトメトリーなど）や *in vitro* 実験のいずれにも使用可能です。

品名

メーカー 商品コード

包装 / 価格 (¥)

DNs-Rh <Cell-based GST Activity Assay Reagent> NEW

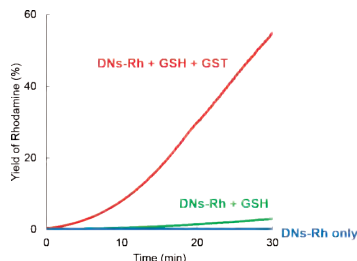
FNA FDV-0030

0.1 μmol / 30,000

使用例

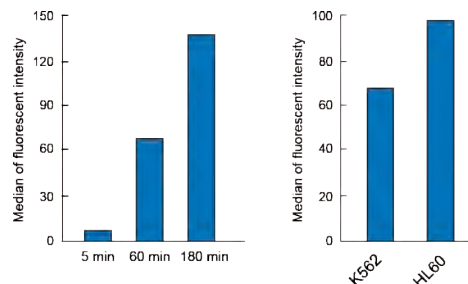
※イメージングでの使用例は p.27 をご覧ください。

■ *in vitro* における GST 活性測定



GSTP₁ 組換え体に DNs-Rh, GSH を添加して、緑色蛍光強度を経時的に観察した。GST 存在時 (GSH(+)/GST(+)) は約 30 分間で蛍光強度の著しい増加が見られ、プローブの約 55% が Rhodamine に変換されていたのに対し、GSH(+)/GST(-) 条件下では GSH によりわずかな増加が見られたものの、Rhodamine への変換効率は 3% であった。

■ フローサイトメトリーによる GST 活性の定量



左: K562 細胞に 2.5 μM の DNs-Rh を添加し、フローサイトメトリーで測定 (Ex / Em = 488 / 525 nm) した。時間依存的な蛍光強度の増加が観察された。

右: K562 細胞と HL60 細胞に DNs-Rh を添加し、60 分後にフローサイトメトリーで測定 (Ex / Em = 488 / 525 nm) した。HL60 細胞の方が K562 細胞よりも 1 細胞あたりの GST 活性が高いことが分かる。